

角膜诱导过程中组织化学变化的初步研究

王子仁 全允栩

(兰州大学生物系)

过去关于角膜诱导的实验,主要进行的是组织形态变化的研究,很少涉及这一过程中组织和细胞化学的研究。可以设想,由皮肤转变成角膜这一组织形态上的变化,肯定是与蛋白质、核酸、糖类等细胞主要组分的变化相联系的。本实验就是希望初步探索角膜诱导过程中的一些组织化学的变化。

实验取用兰州地区花背蟾蜍 (*Bufo raddei* Strauch) 具后肢芽的蝌蚪,经角膜移植手术后,每隔2~3天,用Zenker和Carnoy氏液进行固定,石蜡切片,厚5微米。用格花青—铬明矾法和甲绿—派若宁法显示DNA和RNA,并用核糖核酸酶和INHCl消化作为对照;用汞溴酚兰法、过甲酸—Schiff氏法和铁氰化铁法分别显示总蛋白、角蛋白及含SH—基的蛋白质;用高碘酸—Schiff氏法(PAS反应)显示多糖,并以淀粉酶消化作对照观察糖元。为使染色一致,尽量做到经作用物、染色和分化的时间相同。

组织切片观察显示:

蛋白质:用汞溴酚兰法显示的总蛋白,在正常皮肤、角膜和移植块中,它们的相似之处是:上皮的表层及所有的细胞核均呈强的阳性反应,核仁染色更深,基底结缔组织层呈稍强的阳性反应(图1)。角膜诱导过程中,总蛋白的变化主要发生在移植块上皮基层细胞的胞质中:正常皮肤和角膜核层染色较浅,后者近表层处染色稍深;移植块在手术后的初期和色素开始消失的两个时期出现染色加强的现象(图2),此后逐渐变得与角膜相似。角膜诱导过程中角蛋白和含SH—基的蛋白质变化不显著。

核酸:用格花青—铬明矾法和甲绿—派若宁法显示的结果基本相同,后者显示的变化较明显。在正常皮肤、角膜和移植块中,它们的相似处是:所有的细胞核均呈强的DNA阳性反应,核仁呈强的RNA阳性反应,上皮及基底结缔组织层细胞的胞质呈弱的阳性反应或阴性反应。移植块上皮基底细胞的胞质中RNA染色反应的强度变化较大,与角膜诱导过程中蛋白质的变化相似,在手术后的初期和色素开始消失两个时期,在核的周围出现RNA嗜染颗粒增多的现象。

糖类:在正常皮肤、角膜和移植块中,主要含多糖类。在角膜诱导过程中三者差异不明显:上皮表层及基底结缔组织层均呈强的阳性反应,上皮基层染色较浅。只是正常角膜基底结缔组织层近上皮的边缘处染色更深一些。

上述结果表明,角膜诱导过程中,主要是在代谢活跃的移植块上皮基底细胞中,蛋白质和核酸(特别是RNA)的含量发生明显变化,出现两个高峰:第一个高峰在手术后的初期,即从手术后到移植块展平愈合,它可能是借助代谢作用物质(蛋白质)的合成来修复损伤和使移植块与宿主皮肤相愈合。第二个高峰的出现与色素开始消失的时间基本一致,初步断定此时细胞已开始分化,它可能与移植块透明和组织重建时新蛋白质的合成有关。



1

图1. 溴酚兰法显示总蛋白, 正常背部皮肤中蛋白质的分布情况。

×2000



2

图2. 溴酚兰法显示总蛋白, 移植块色素开始消失时上皮细胞质的染色加强 (箭头所示)。

×2000